

Scheeren T, Godecke A, Schrader J, Schulz R, Heusch G, Schaub G, Bryan N, Feelisch M, Kelm M. Plasma nitrite reflects constitutive nitric oxide synthase activity in mammals. *Free Radic Biol Med* 2003; 35:790-796

30. Kobara M, Tatsumi T, Takeda M, Mano A, Yamanaka S, Shiraishi J, Keira N, Matoba S, Asayama J, Nakagawa M. The dual effects of nitric oxide synthase inhibitors on ischemia-reperfusion injury in rat hearts. *Basic Res Cardiol* 2003; 98:319-328

31. Yasmin W, Strynadka KD, Schulz R. Generation of peroxynitrite contributes to ischemia-reperfusion injury in isolated rat hearts. *Cardiovasc Res* 1997; 33:422-432

НО-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ КИСЛОРОДСВЯЗУЮЩИХ СВОЙСТВ ГЕМОГЛОБИНА

Зинчук В.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Беларусь*

В большинстве исследований, термин "дисфункция эндотелия" используется как синоним нарушений эндотелиального метаболизма L-аргинин-NO системы, так как монооксид азота (NO) является сигнальным агентом, участвующим в опосредовании его функций и основное его количество, образуемого в организме, осуществляется в эндотелии. Снижение синтеза NO может быть вызвано: отсутствием исходного субстрата - L-аргинина, отсутствием кофакторов, сниженной экспрессией фермента и повышением уровня эндогенных ингибиторов фермента (например, асимметрично диметилированных производных аргинина). Кроме того, снижение антиоксидантной способности организма также может вести к зависимой от NO дисфункции эндотелия, так как снижение его эффектов может вызываться усиленной его инактивацией в результате повышенной выработки кислородных радикалов.

В последние годы проблема изучения физиологических эффектов NO приобрела новый аспект, а именно его взаимодействие с различными компонентами крови, и в частности, с гемоглобином. Предложена теория сосудистого «сохранения» и транспорта NO гемоглобином. В литературе широко обсуждались различные стороны этого вопроса, что получило отражение в ряде публикаций с весьма интригующими заголовками: «Гемоглобин: транспортер NO, инактиватор NO или ни то ни другое?» [Hobbs A.J. et al., 2002]; «Реакции азота с гемоглобином: взгляд через шторм SNO» [Gladwin M.T. et al., 2003];

«Гемоглобин и паракринные и эндокринные функции оксида азота» [Schechter A.N., Gladwin M.T. 2003], «NO в эритроците как эндокринный вазодилататор» [Datta B. et al., 2004]. «Химическая физиология кровотока, регулируемая эритроцитами: роль NO и нитрозогемоглобина» [Singel D.J., Stamler J.S., 2005].

Газотранспортную функцию крови рассматривают как обеспечивающую перенос не 2-х газов согласно классическим представлениям, а 3-х, а именно O_2 , CO_2 и NO. Существует цикл связывания этих газов и их высвобождения в различных регионах сосудистой системы. В крови содержится в 1000 раз больше NO, чем это требуется для регуляции кровотока. Предполагается участие NO в регуляции функциональных свойств гемоглобина в сосудистом компартменте. При концентрациях NO выше, чем это требуется для обеспечения дилатации кровеносных сосудов, возможно его влияние на кислородсвязывающие свойства крови. Оценивая взаимодействие гемоглобина с NO, последний рассматривают как лиганд, определяющий кислородтранспортную функцию крови.

В результате взаимодействия NO и гемоглобина происходит образование его различных NO-форм: метгемоглобин, нитрозилгемоглобин, нитрозогемоглобин, которые играют роль своеобразного аллостерического регулятора функциональной активности гемоглобина на уровне отдельных его тетрамеров. Присутствие этих соединений гемоглобина с NO может по-разному влиять на сродство гемоглобина к кислороду (СГК) всей крови: метгемоглобин и нитрозогемоглобин его повышают, а нитрозилгемоглобин снижает. Величина $p50$ нитрозогемоглобин, находящегося вне эритроцита, имеет значение менее 10 мм рт.ст., а в растворе (с 30% нитрозилированием $\beta 93$ -цистеина) его величина составляет $4,3 \pm 0,27$ мм рт.ст., а для нитрозилгемоглобина - $39,6 \pm 1,5$ мм рт.ст. [Зинчук В.В., 2005].

В ряде опытов было показано изменение кислородтранспортной функции крови при введении веществ, изменяющих активность L-аргинин-NO-системы. Введение L-аргинина и ингибитора NO-синтазы (N^G -нитро-L-аргинин) при лихорадке, индуцированной введением ЛПС, сопровождалось увеличением $p50_{\text{станд}}$ с $33,7 \pm 1,1$ до $37,1 \pm 1,3$ мм рт.ст., что в частности обусловлено различными эффектами NO-производных гемоглобина на СГК [Зинчук В.В., 2005]. Введение нитроглицерина в/б крысам производило к увеличению метгемоглобина на 217,1% и $p50$ на 29,2%, а в условиях введения липополисахарида и предварительного повышения СГК эти эффекты донора NO усиливались [Зинчук В.В., 2005]. Обработка крови различными концентрациями NO, либо донорами NO (соль Анжели и др.) повыша-

ет СГК, линейно коррелирующее с уровнем метгемоглобина, что предполагает вклад последнего в модификации транспорта кислорода кровью [Hrinczenko B.W. et al., 2000]. Установлен эффект NO на структурные и функциональные свойства эритроцитов: инкубация крови со спермин-NONO-атом снижает деформируемость эритроцитов и $p50$ (в зависимости от концентрации NO, не влияя на активность перекисного окисления липидов) [Mesquita R. et al., 2002]. В опытах у животных, получивших L-аргинин и подвергавшихся холодовому воздействию, отмечается наименьший сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина влево [Зинчук В.В., 2005]. Приведенные данные предполагают существования механизма формирования кислородсвязующих свойств крови с участием NO, реализуемого на эритроцитарном уровне.

Вклад NO в внутриэритроцитарные механизмы регуляции кислородсвязующих свойств крови, изучался в различных опытах *in vitro*, в которых венозную кровь инкубировали при 37°C в анаэробных условиях с его донорами (нитроглицерином, молсидоминем, нитрозоцистеином и L-аргинином) в различном концентрационном соотношении гемоглобина и образующегося из донора NO. Также предварительно оксигенированную или дозоксигенированную в течение 30 минут кровь инкубировали с нитрозоцистеином. Результаты выполненных исследований свидетельствуют о том, что в крови смешанной с нитрозоцистеином и подвергавшейся оксигенации, значение $p50$ стандартного было ниже на $3,9 \pm 0,70$ мм рт. ст. ($p < 0,05$), а $p50$ реального на $3,4 \pm 0,95$ мм рт. ст. ($p < 0,05$) и соответственно сдвиге кривой диссоциации оксигемоглобина вправо.

Кроме того, NO взаимодействует с O_2^- с образованием пероксинитрита, который может быть модификатором свойств гемоглобина через различные реакции. В тоже время гемоглобин может обеспечивать защиту от пероксинитрита, выполняя функцию внутриклеточного антиоксиданта, что уменьшает вероятность образования его высоких концентраций и, следовательно, его повреждающего действия. Инкубирование венозной крови с пероксинитритом (в соотношении с гемоглобином 1:1) приводило к повышению СГК. Отмечалось снижение по отношению к контролю величины $p50$ стандартного на $3,65 \pm 1,28$ мм рт. ст. ($p < 0,05$) и реального на $4,47 \pm 1,59$ мм рт. ст. ($p < 0,05$). Вероятно, данный эффект реализуется через образование различных форм гемоглобина: окисленной по гему и модифицированной по его аминокислотным остаткам. Это может иметь значение для формирования функциональных свойств гемоглобина и его участия в формировании потока O_2 в ткани и поддержании прооксидантно-антиоксидантного

равновесия в организме. Влияние NO на модуляцию кислородсвязывающих свойств крови проявляется при его высоких концентрациях в капиллярах, вследствие большей активности эндотелиальной изоформы NO-синтазы в артериолах и относительно малого объема крови, приходящейся на единицу площади в данном участке сосудистой системы [Zinchuk V.V. et al., 2004], а также при избыточной продукции NO за счет экспрессии индуцибельной изоформы NO-синтазы или его повышенного образования при введении тех или иных фармакологических препаратов (например, в кардиологии). Влияние NO на формирование кислородсвязывающих свойств крови через образование различных NO-соединений с гемоглобином, регуляцию сосудистого тонуса, действие пероксинитрита может иметь важное значение для обеспечения процессов газообмена и иных его физиологических функций.

Таким образом, результаты выполненных исследований подтверждают выдвинутую гипотезу о том, что NO через сопряженные механизмы участвуют в формировании кислородсвязывающих свойств крови, представляется возможным создание новых путей коррекции дисфункции эндотелия через целенаправленное воздействие на данную функцию крови и L-аргинин-NO систему. Воздействие на кислородсвязывающие свойства крови с помощью фармакологических веществ, способных направленно изменять активность L-аргинин-NO системы, может быть использовано в качестве эффективного средства коррекции развития дисфункции эндотелия.

Данная работа выполнена частично благодаря финансовой поддержке Фонда фундаментальных исследований РБ (№ Б05-040).

Литература

1. Зинчук В.В. Роль кислородсвязывающих свойств крови в формировании прооксидантно-антиоксидантного состояния организма при гипертермических состояниях различного генеза. – Гродно, ГГМУ, 2005. – 168 с.
2. Datta B., Tufnell-Barrett T., Bleasdale R.A., Jones C.J., Beeton I., Paul V., Frenneaux M., James P. Red blood cell nitric oxide as an endocrine vasoregulator: a potential role in congestive heart failure. // Circulation. – 2004. – Vol. 109, № 11. – P. 1339-1342.
3. Gladwin M.T., Lancaster J.R. Jr., Freeman B.A., Schechter A.N. Nitric oxide's reactions with hemoglobin: a view through the SNO-storm. // Nat. Med. - 2003. – Vol. 9, № 5. - P. 496-500.
4. Hobbs A.J., Gladwin M.T., Patel R.P., Williams D.L.H., Butler A.R. Haemoglobin NO transporter, NO inactivator or NO one of the above? // Trends in Pharmacological Sciences. – 2002. – Vol. 23, № 9. – P. 406-411.
5. Hrinchenko B.W., Alayash A.I., Wink D.A., Gladwin M.T., Rodgers G.P., Schechter A.N. Effect of nitric oxide and nitric oxide donors on red blood cell oxygen

transport // Br. J. Haematol. – 2000. – Vol. 110. – P. 412-419.

6. Mesquita R., Picarra B., Saldanha C., Martins e Silva J. Nitric oxide effect on human erythrocytes structural and functional properties – an in vitro study. // Clin. Hemorheol. Microcirc. - 2002. – Vol. 27, № 2. – P. 137-147.

7. Schechter A.N., Gladwin M.T. Hemoglobin and the paracrine and endocrine functions of nitric oxide. // N. Engl. J. Med. - 2003. – Vol. 348, № 15. – P. 1483-1485.

8. Singel D.J., Stamler J.S. Chemical physiology of blood flow regulation by red blood cells: the role of nitric oxide and S-nitrosohemoglobin // Annu. Rev. Physiol. – 2005. – Vol. 67. – P - 99-145.

9. Zinchuk V.V., Pronko T.P., Lis M.A. Blood oxygen transport and endothelial dysfunction in patients with arterial hypertension // Clinical Physiology & Nuclear Medicine. - 2004. – Vol. 24. – P.205-211

УЧАСТИЕ СИСТЕМЫ МОНООКСИДА УГЛЕРОДА В РЕГУЛЯЦИИ ТОНУСА КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ

Кукоба Т.В., Пивовар С.Н., Мойбенко А.А.

*Институт физиологии им. А.А.Богомольца НАН Украины,
Украина*

Монооксид углерода (CO) - эндогенно образующийся газ, который подобно оксиду азота (NO) принимает участие в физиологической регуляции сосудистого тонуса. Вазодилатация, индуцированная CO, является результатом его прямого влияния на гладкие мышцы сосудов и была показана в различных исследованиях (0). Образуюсь из гема через действие микросомальных гемоксигеназ (ГО) (индукбельной ГО-1 и конститутивных ГО-2 и ГО-3), эндогенный CO может оказывать выраженное цитопротективное влияние, в частности оказывать противовоспалительные и антиапоптотические эффекты (1, 0). Нейрофизиологические исследования показали, что CO является биологически активным ретроградным мессенджером в ЦНС (0). Некоторые исследователи рассматривают CO в качестве биомаркера индукции ГО-1 и окислительного стресса при таких заболеваниях как бронхиальная астма или сахарный диабет (0, 0). Целью нашей работы было изучение механизмов влияния эндогенного и экзогенного CO на тонус коронарных сосудов в норме, при ишемии - реперфузии и при повреждении целостности сосудистого эндотелия.

Материал и методы исследования

Эксперименты проводили на изолированных сердцах и на изолированных полосках грудной аорты крыс линии Вистар (250-300 г). Изолированные сердца крыс перфузировали по методу Лангендорфа